



Mahidol University
Faculty of Medical Technology

Final Report

The External Quality Assessment Scheme in Clinical Immunology (EQAI)

Hepatitis B Virus Serology

Trial: 1 / 2024

Issue No. 01 Issue Date: 28 March 2024

Provided by:

EQAI: Hepatitis B Virus Serology program
Department of Clinical Microbiology and Applied Technology
Faculty of Medical Technology, Mahidol University
Mobile: 080 982 5570
E-mail: eqai.mahidol@gmail.com

Approved by:

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Chaniya Leepiyasakulchai".

Assoc. Prof. Chaniya Leepiyasakulchai, Ph.D.
Scheme Coordinator



1. รายละเอียดชุดตัวอย่าง

การดำเนินการ Hepatitis B virus Serology Scheme 2024 trial ที่ 1 นี้ โครงการฯ ได้เตรียมสิ่งส่งตรวจซึ่งเป็นซีรัมมนุษย์ที่เตรียมจาก fresh frozen plasma ให้กับสมาชิก จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ หมายเลข SE 02-24-1-1 ถึง SE 02-24-1-4 โดยมีค่า assigned value ของการทดสอบแบบ qualitative จากค่าห้องจากสมาชิกรายงานตรงกันมากกว่า 80% ทางโครงการฯ ได้จำแนกค่า assigned value ตามหลักการทดสอบ และค่า assigned value จากทุกวิธีรวมกัน (all methods) ส่วนค่า assigned value แบบ quantitative ใช้การหาค่าตามหลักสถิติมาตรฐาน ISO 13528 โดยแสดงค่า mean, nIQR และแสดงค่า uncertainty ในทุกหลักการการทดสอบ และจากทุกวิธี (all methods) ซึ่งสมาชิกสามารถศึกษาได้จาก individual report ตารางที่แสดงค่า assigned value นี้เป็นค่าที่คิดจากทุกวิธีรวมกัน

ตารางที่ 1: ค่า assigned value ชนิด qualitative ของ HBV markers (All method)

	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	HBeAg	Anti-HBe
SE 02-24-1-1	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
SE 02-24-1-2	Negative	Positive	No consensus	Negative	Negative
SE 02-24-1-3	Negative	Positive	No consensus	Negative	No consensus
SE 02-24-1-4	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive

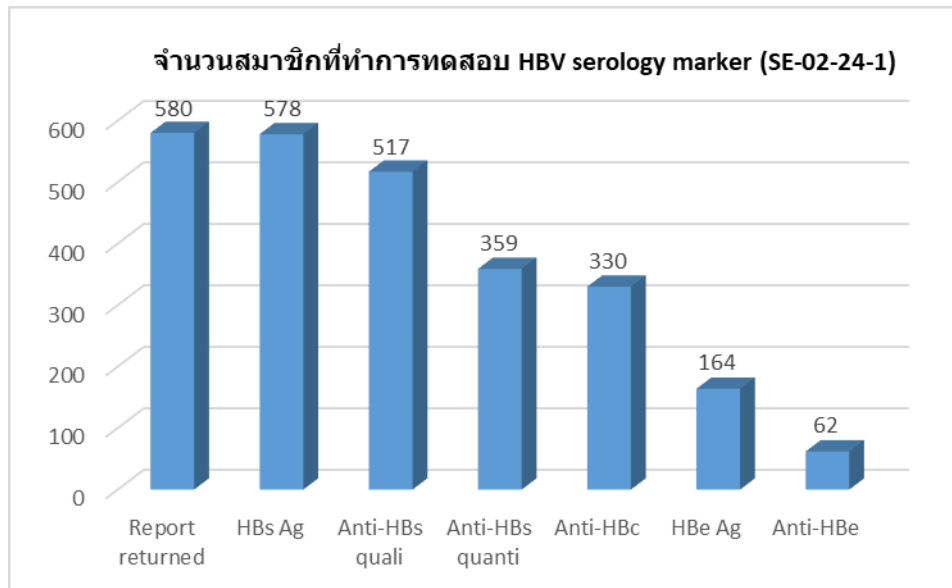
ตารางที่ 2: ค่า assigned value ชนิด quantitative ของ Anti-HBs (All method)

	Median	nIQR	Uncertainty
SE 02-24-1-1	2	0.5	0.12
SE 02-24-1-2	742	50.11	5.35
SE 02-24-1-3	137.4	13.57	1.45
SE 02-24-1-4	2	0.5	0.11

2. สรุปผลการดำเนินงาน

2.1. การเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

ในรอบปีนี้มีสมาชิกเข้าร่วมโครงการจำนวน 627 แห่ง มีห้องปฏิบัติการที่ส่งผล trial ที่ 1 กลับมาจำนวน 580 แห่ง (ร้อยละ 92.5) โดยห้องปฏิบัติการจำนวน 580 แห่งนี้ ทำการทดสอบ HBV makers ต่าง ๆ ดังแสดงตามแผนภาพ



แผนภาพที่ 1: จำนวนสมาชิกที่ทำการทดสอบ HBV marker ต่าง ๆ

3.รายละเอียดผลการทดสอบของสมาชิก

3.1 รายละเอียดผลการทดสอบ HBV serology ของแต่ละ Marker สมาชิกสามารถศึกษาได้จาก Individual Report ซึ่งทางโครงการฯ ได้จำแนกผลการทดสอบจากสมาชิกที่ทดสอบในแต่ละวิธีของทุกตัวอย่าง และทุก Marker ดังแสดงตัวอย่าง

SE02-24-1-1

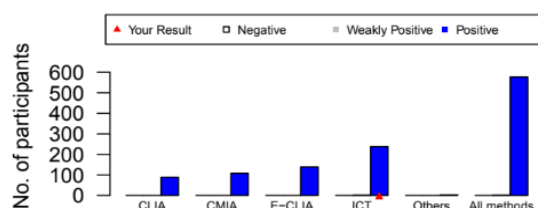
Number of result submitted: 578

A. Your result

Method	Result	Consensus	Score	Performance
ICT	Positive	Positive	2	Acceptable

B. All Participants Results

	N	Negative	Weakly Positive	Positive	Consensus
CLIA	89	0	0	89	Positive
CMIA	108	0	0	108	Positive
E-CLIA	139	0	0	139	Positive
ICT	239	0	1	238	Positive
Others	3	0	0	3	All Methods
All methods	578	0	1	577	Positive

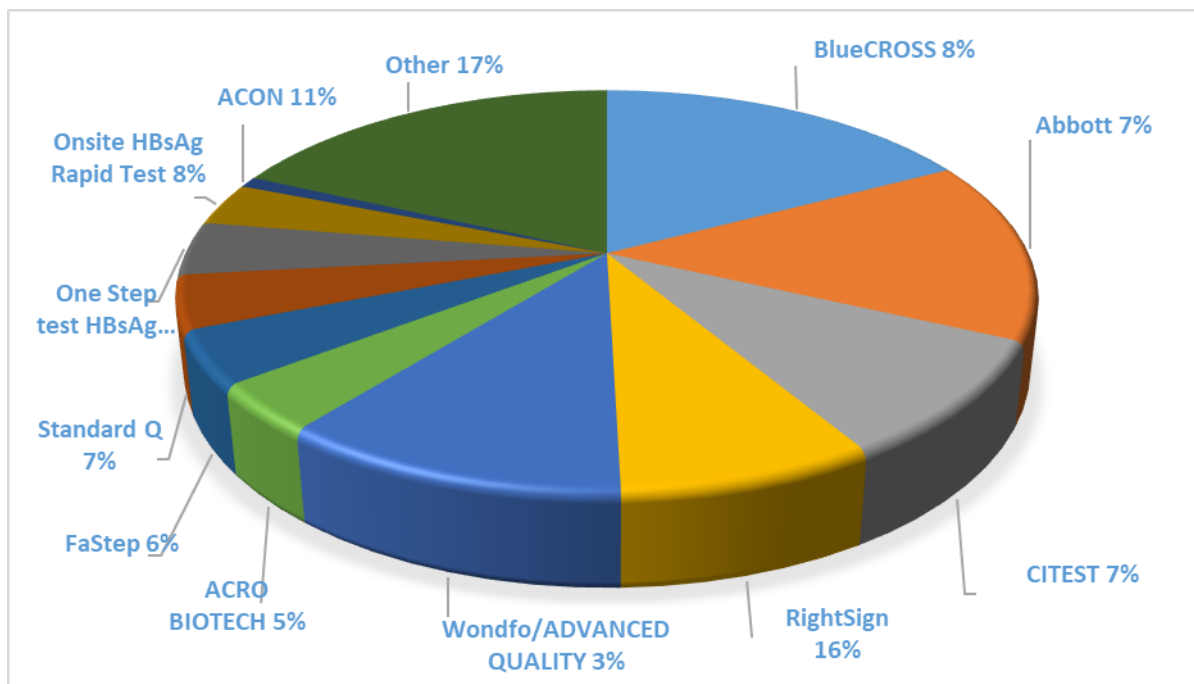


การรายงานผลแบบ qualitative test ทางโครงการฯ พบว่าสมาชิกกลุ่มที่ใช้การทดสอบหลักการ immunochromatography test (ICT) รายงานผลไม่พ้องกันมากกว่า 80% ทำให้ไม่สามารถออกค่า assigned value ในกลุ่มที่ใช้ ICT ดังแสดงในตารางที่ 3 ทางโครงการฯ จึงขอให้ท่านพิจารณาเลือกใช้ชุดทดสอบที่เหมาะสม และทำ internal quality control ในการทำการทดสอบ สัดส่วนการใช้ ICT จากสมาชิกที่รายงานน้ำยาที่ใช้แสดงในแผนภาพที่ 3



ตารางที่ 3: ผลของการทดสอบที่ใช้หลักการ immunochromatography ต่างจาก automation

Marker	Sample	ICT	Automation
Anti-HBs	SE02-24-1-3	No Consensus	Positive
Anti-HBc	SE02-24-1-2	Negative	Positive
	SE02-24-1-3	No Consensus	Positive
Anti-HBe	SE02-24-1-3	Negative	Positive



แผนภาพที่ 3: สัดส่วนการใช้ยี่ห้อ ICT จากสมาชิกที่รายงานน้ำยาที่ใช้

ในส่วนการวิเคราะห์ผลการรายงานแบบปริมาณ ทางโครงการฯ ได้ยกเลิกการวิเคราะห์ผลของ HBsAg ที่รายงานในหน่วย S/CO, COI, Index เนื่องจากพิจารณาเห็นว่าสมาชิกใช้ล๊อตน้ำยาที่ไม่เหมือนกันและไม่เกิดประโยชน์ในการนำมาวิเคราะห์ทางสถิติแต่อย่างใด

ในส่วนของการประเมิน anti-HBs ทางโครงการฯ ได้ประเมินแยกตามกลุ่มวิธีการทดสอบ โดยประเมินตามหลักสถิติมาตรฐาน ISO 13528 สมาชิกสามารถศึกษาผลการประเมินดังตัวอย่างแสดง อนึ่งหากวิธีใดมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ ทางโครงการฯ จะไม่ประเมินให้ แต่ให้สมาชิกศึกษาผลรายงานของสมาชิกเองเทียบกับกลุ่มอื่นและเทียบกับทุกวิธีรวมกัน

**SE02-24-1-1**

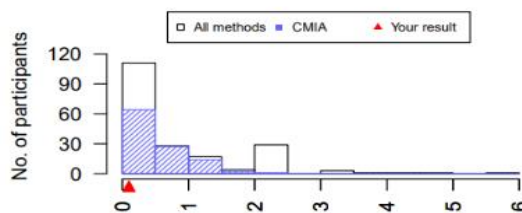
Number of result submitted: 359

A. Your result

Method	N	Result	Median	nIQR	z-score
CMIA	108	0.1	0.36	0.5	-0.52

B. All Participants Results

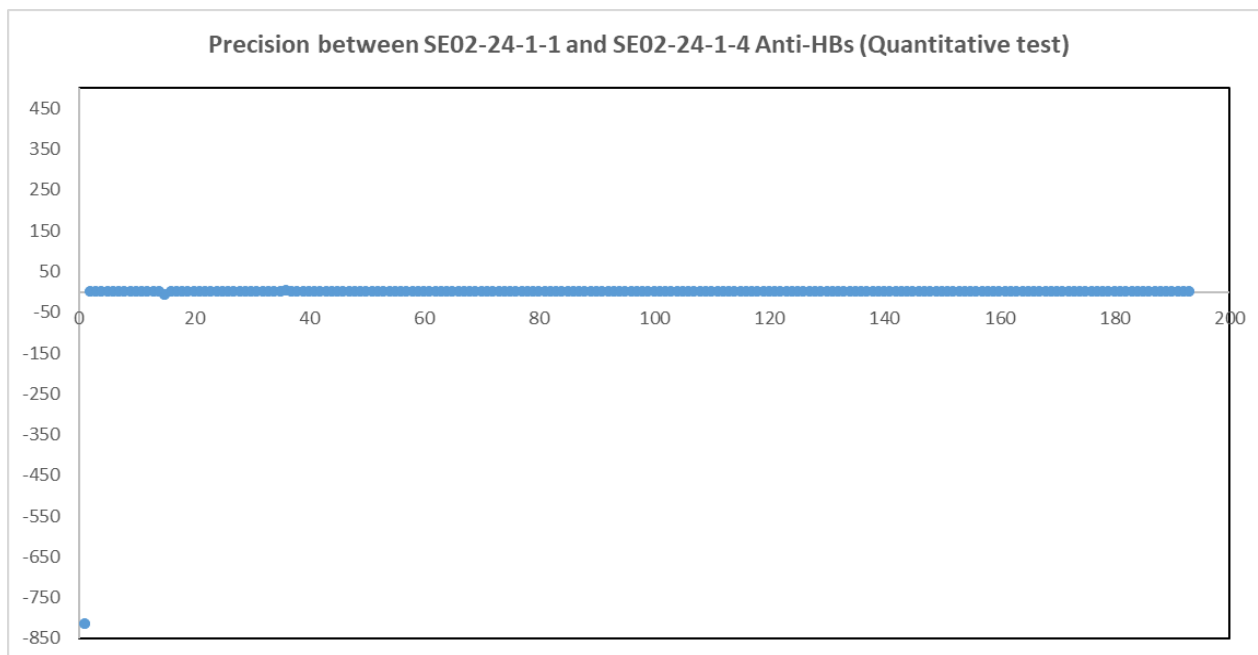
Method	N	Median	nIQR	Uncer
CLIA: Beckman Coulter	3	NA	NA	NA
CLIA: Liaison	1	NA	NA	NA
CLIA: Mindray	14	0	0.5	0.17
CLIA: Siemens	2	NA	NA	NA
CLIA: Snibe Maglumi	10	1.73	1.98	0.78
CLIA: Sysmex	3	NA	NA	NA
CLIA: Vitros	25	0	0.5	0.12
CMIA	108	0.36	0.5	0.06
E-CLIA	29	2	0.5	0.12
Other	1	NA	NA	NA
All methods	196	0.34	0.82	0.09

**3.2 การประเมินความเที่ยง**

ในรอบนี้ทางโครงการฯ ส่งตัวอย่างหมายเลข SE 02-24-1-1 และ SE 02-24-1-4 ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวกัน และทำการประเมินสมาชิก พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่รายงานผลแบบเชิงคุณภาพทั้ง 2 ตัวอย่างตรงกัน แต่มีสมาชิกบางรายที่รายงานผลไม่ตรงกัน ซึ่งสรุปผลได้ดังนี้

HBV marker	Non-agreement between SE 02-24-1-1 & SE 02-24-1-4	
	Number	%
HBsAg	4	0.69
Anti-HBs	4	0.77
Anti-HBc	6	1.81
HBeAg	2	1.21
Anti-HBe	1	1.61

สำหรับการประเมินผล anti-HBs แบบเชิงปริมาณของตัวอย่างหมายเลข SE 02-24-1-1 และ SE 02-24-1-4 ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวกัน พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่รายงานผลแบบเชิงปริมาณของทั้ง 2 ตัวอย่างค่าใกล้เคียงกัน แต่มีสมาชิกบางรายที่รายงานผล anti-HBs แบบเชิงปริมาณของทั้ง 2 ตัวอย่างต่างกันมาก ซึ่งสรุปผลได้ดังนี้



แผนภาพที่ 5: การประเมินความเที่ยงของ antiHBs แบบเชิงปริมาณ

3.3 การวิเคราะห์ performance quality ของห้องปฏิบัติการที่รายงานผลแบบ qualitative รายงานจากค่า Overall Missclassification Index Score (OMIS) จากตัวอย่างทั้ง 4 ตัวอย่าง ของแต่ละ marker และ Overall Mean Missclassification Index Score (OMMIS) มีดังนี้

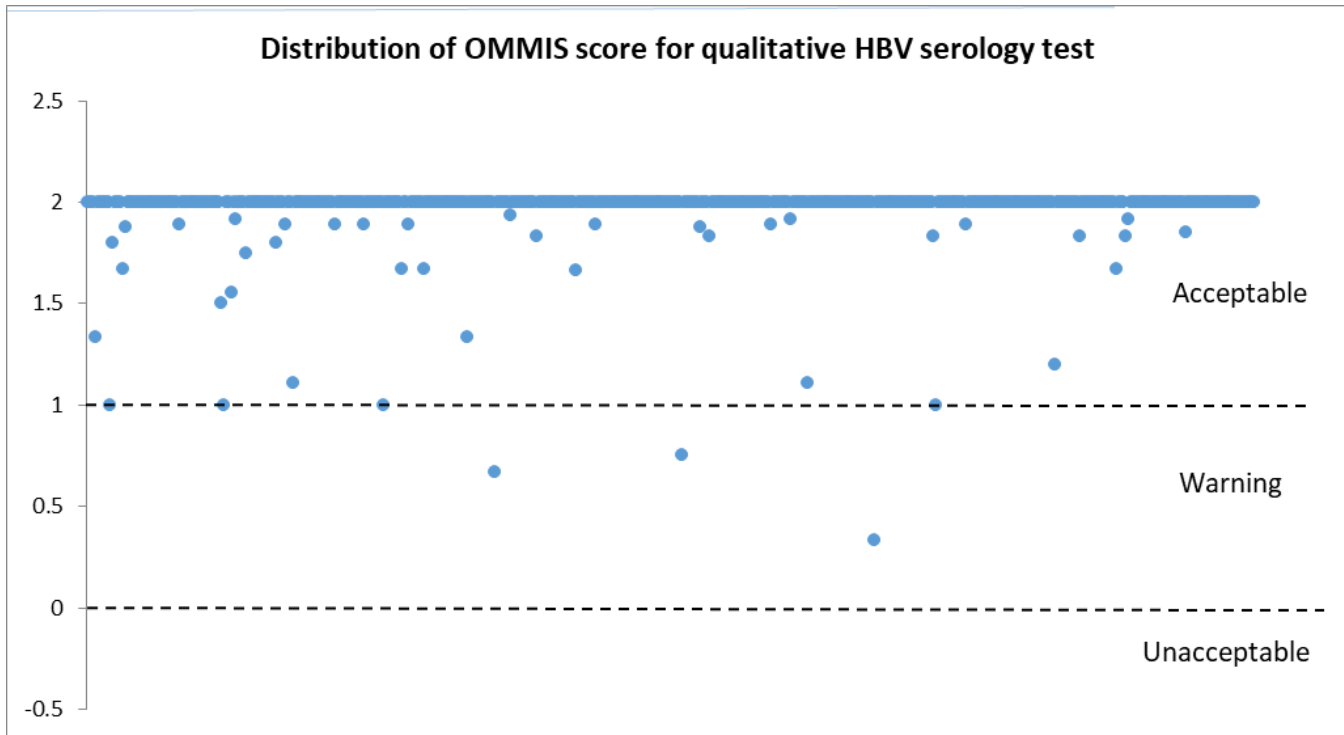
ตารางที่ 5: Performance of participants (qualitative test)

	การทดสอบ	Performance (qualitative test)			
		Acceptable (labs)	Warning (labs)	Unacceptable (labs)	Total (labs)
OMIS	HBs Ag	571	2	5	578
	Anti-HBs	517	0	0	517
	Anti-HBc	315	3	12	330
	HBe Ag	162	1	1	164
	Anti-HBe	61	0	1	62
OMMIS	HBV serology	571	4	4	579



โครงการฯ ยึดหลักเกณฑ์การประเมิน HBV serology (Qualitative test) ดังนี้

Score Evaluation	2.00	Acceptable
	1.0	Warning
	<1	Unacceptable



แผนภาพที่ 6: แสดงค่า OMMIS Qualitative test HBV serology

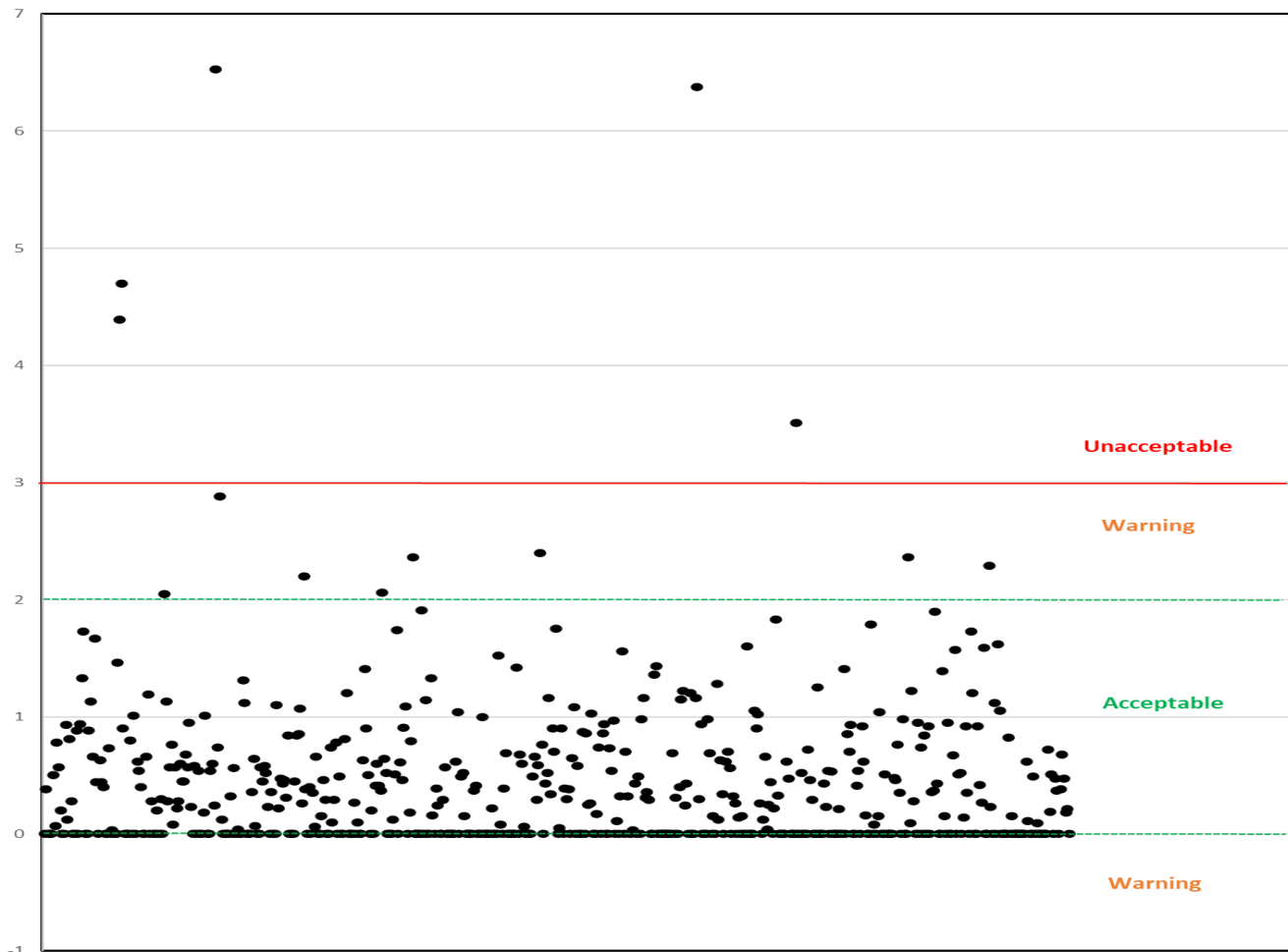
3.4 ผลของ laboratory performance quality ของการทดสอบ Anti-HBs แบบ quantitative ซึ่งวิเคราะห์โดยอิงกลุ่มที่ใช้วิธีเดียวกัน คำนวณจากค่า Z-Score มีผลการประเมินดังแสดงในตารางที่ 6 และแผนภาพที่ 7 ซึ่งจากแผนภาพแสดงค่า Z-Score ของสมาชิกที่รายงาน Anti-HBs แบบเชิงปริมาณ พบว่ามีสมาชิกจำนวน 7 รายที่มีค่า Z-score > |3| มีสมาชิกจำนวน 6 ห้องปฏิบัติการไม่ถูกนำมาประเมินในแผนภาพเนื่องจากวิธีการทดสอบมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ (หลักการ CLIA: Beckman Couter 3 ห้องปฏิบัติการ และหลักการ CLIA: Sysmex 3 ห้องปฏิบัติการ) และมีสมาชิกจำนวน 1 ห้องปฏิบัติการรายงานค่าไม่ถูกต้องซึ่งไม่สามารถนำมาคำนวณค่าทางสถิติได้

ตารางที่ 6: Performance of Participants performed Anti-HBs

Performance quality	score	Number of Participants
Acceptable	0 - 2	335
warning	> 2 - 3	10
unacceptable	> 3	7



Distribution of Z-score for Anti-HBs test



แผนภาพที่ 7: แสดงค่า Z-Score ของสมาชิกที่รายงาน Anti-HBs แบบเชิงปริมาณ

4. สรุปและวิจารณ์

ในครั้งที่ 1/2024 นี้ อัตราผลตอบของสมาชิกถือว่าอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (ร้อยละ 92.5) แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่ามีสมาชิกไม่รายงานผลกลับซึ่งถือว่าเป็นการเสียโอกาสในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการและอาจจะส่งผลกระทบต่อ การขอรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ สมาชิกสามารถส่งผลและรับผลการประเมิน รวมทั้งข่าวสารต่างๆ จากทาง โครงการผ่านเว็บไซต์ <https://eqamt.mahidol.ac.th/>

ทางโครงการฯ มีความกังวลถึงวิธีการที่สมาชิกเลือกใช้ชุดทดสอบ Immunochromatography Test ของ ห้องปฏิบัติการสมาชิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับตรวจหา Anti-HBs, Anti-HBc และ Anti-HBe ซึ่งทางโครงการฯ สังเกตเห็นว่าชุดทดสอบแบบรวดเร็วนี้ให้ผล False negative เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ใช้ automation ดังนั้นจึงขอแนะนำ ห้องปฏิบัติการสมาชิกเลือกใช้ชุดทดสอบที่ได้ผ่านการประเมินประสิทธิภาพการทดสอบ และทำการควบคุมคุณภาพการ ทดสอบภายในด้วย



5.รายนามที่ปรึกษาสถิติและผู้ดำเนินแผน

5.1 รายนามที่ปรึกษาทางสถิติ:

อาจารย์ ดร. ประสงค์ แคน้ำ

5.2 รายนามผู้ดำเนินแผน:

ผู้ประสานแผน (Scheme Coordinator) :

รองศาสตราจารย์ ดร. ชนินยา ลีปิยะสกุลชัย

ผู้จัดการวิชาการ (Technical Manager) :

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมหญิง โลหะรังสีกุล

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโครงการฯ (Operator):

นางสาววิศรดา ประทีนอาราม



ภาคผนวก

1.ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity test)

ตัวอย่างที่ถูกแบ่งบรรจุแล้วถูกนำไปตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการสุ่มเลือกตัวอย่างด้วยโปรแกรมเอ็กซ์เซล จำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อทำการทดสอบ ที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูงตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้รับการรับรอง ISO15189 หลักการทดสอบที่ใช้ คือ E-CLIA จากผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงคุณภาพของตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ผลการทดสอบทั้งหมดของตัวอย่าง (ร้อยละ 100) มีผลการทดสอบที่เหมือนกันทั้ง 10 ตัวอย่าง และผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงปริมาณโดยหลัก สถิติ ISO 13528 ของค่า antiHBs ตัวอย่างที่ SE02-24-1-2 และ SE02-24-1-3 โดยเกณฑ์ผ่านคือ $s_p \leq 0.3 nIQR$ ดังแสดงในตารางที่ 2 และ ตารางที่ 3

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

SE02-24-1-1				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS

SE02-24-1-3				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	POS

SE02-24-1-2				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	POS

SE02-24-1-4				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
NEG	POS	POS	NEG	NEG



ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชิงปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-24-1-2

Position t	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $X_{t..}$	Between-test- portion range	
				w_t	w_t^2
37	761.40	771.40	766.40	-10.00	100.00
67	756.60	774.30	765.45	-17.70	313.29
172	798.10	771.10	784.60	27.00	729.00
224	772.20	768.30	770.25	3.90	15.21
281	775.10	779.10	777.10	-4.00	16.00
347	768.30	767.20	767.75	1.10	1.21
401	771.70	764.70	768.20	7.00	49.00
456	766.60	776.70	771.65	-10.10	102.01
576	782.10	779.60	780.85	2.50	6.25
634	768.40	768.20	768.30	0.20	0.04
				$= \sum w_t^2$	1332.01

Calculate S_w & S_s , Method ECLIA by ISO 13528 formula:

General average of sample mean	772.06
Standard deviation of sample averages (s_x)	6.55
Within-samples standard deviation (s_w)	8.16
Between-samples standard deviation (s_s)	3.11

$nIQR = 50.11$

Thus, $0.3 nIQR = 15.03$

$S_s < 0.3nIQR \Rightarrow PASS$

Conclusion: EQAI sample is adequately homogeneous



ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชงปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-24-1-3

Position <i>t</i>	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $X_{t..}$	Between-test- portion range	
				w_t	w_t^2
59	150.40	149.90	150.15	0.50	0.25
83	151.80	148.60	150.20	3.20	10.24
175	152.10	149.20	150.65	2.90	8.41
252	150.70	151.60	151.15	-0.90	0.81
286	146.50	152.80	149.65	-6.30	39.69
331	150.60	149.50	150.05	1.10	1.21
419	149.70	150.10	149.90	-0.40	0.16
518	151.20	149.80	150.50	1.40	1.96
538	152.70	148.90	150.80	3.80	14.44
630	148.20	149.80	149.00	-1.60	2.56
				$= \sum w_t^2$	79.73

Calculate S_w & S_s , Method ECLIA by ISO 13528 formula:

General average of sample mean	150.21
Standard deviation of sample averages (s_x)	0.62
Within-samples standard deviation (s_w)	2.00
Between-samples standard deviation (s_s)	0.00

nIQR = 13.57

Thus, 0.3 nIQR = 4.07

$S_s < 0.3nIQR \Rightarrow PASS$

Conclusion: EQAI sample is adequately homogeneous



2.ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง

โครงการฯ ดำเนินการทดสอบความคงทนใน 2 สภาวะ คือ

1. เก็บตัวอย่างไว้ที่ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันที่ส่งตัวอย่างให้สมาชิกจนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก จึงนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2. ตัวอย่างที่ส่งไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิก 4 ห้องปฏิบัติการ ตามภูมิภาคต่างๆ และได้รับตัวอย่างกลับคืน โดยไม่มีการเปิดกล่อง เมื่อได้รับตัวอย่างคืนทางโครงการเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส จนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก จึงนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ผลการทดสอบความคงตัวเชิงคุณภาพของตัวอย่างทั้ง 2 สภาวะ มีผลการทดสอบที่ไม่ต่างจากผลของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

Conditions		SE-02-24-1-1					SE-02-24-1-3				
		HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe	HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
Transportation	1	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	POS	NEG	POS
	2	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	POS	NEG	POS
	3	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	POS	NEG	POS
	4	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	POS	NEG	POS
Keep at 4°C	1	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	POS	NEG	POS
	2	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	POS	NEG	POS

Conditions		SE-02-24-1-2					SE-02-24-1-4				
		HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe	HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
	1	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS
Transportation	2	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS
	3	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS
	4	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS
Keep at 4°C	1	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS
	2	NEG	POS	POS	NEG	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS